

Aus der Dermatologischen Klinik und Poliklinik
der Philipps - Universität Marburg an der Lahn
vorm. Direktor: Prof. Dr. O. Braun-Falco

Cytokinetische Aspekte der experimentellen Akanthose

- Eine autoradiographische Untersuchung - *

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin der Hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps - Universität zu Marburg

vorgelegt von

Volker Petzold
aus Graz

Marburg 1969

*) Durchgeführt mit Mitteln der Deutschen Forschungsgemeinschaft

Cytokinetische Aspekte der experimentellen Akanthose

- Eine autoradiographische Untersuchung - *

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der gesamten Medizin der Hohen Medizinischen Fakultät
der Philipps - Universität zu Marburg

vorgelegt von

Volker Petzold

aus Graz

Marburg 1969

*) Durchgeführt mit Mitteln der Deutschen Forschungsgemeinschaft

Angenommen von der Medizinischen Fakultät
der Universität Marburg am: 23.1.1969
gedruckt mit Genehmigung der Fakultät
Dekan: Prof. Dr. med. W. Straub
Referent: Prof. Dr. med. O. Braun-Falco
Correferent: Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. E. H. Gaul

Inhaltsverzeichnis

Seite

Einleitung	1
Themastellung	5
Allgemeine Methodik	7
Teil I. Untersuchung experimentell erzeugter Akanthosen	8
Untersuchungsprogramm und spezielle Methodik	8
Ergebnisse und Auswertung	10
1. Untersuchung über die Größe des "Akanthosedefaktors" nach Anwen- dung von gelber und weißer Va- seline	10
2. Das Verhalten der akanthotischen Epidermis nach Absetzen der Vase- linebehandlung	11
3. Die Reaktion der Epidermis auf Reiben ohne Vaselineapplikation..	11
4. Das unterschiedliche Verhalten von Ohr- und Rückenepithel nach Behandlung mit weißer Vaseline ..	12
Teil II. Bestimmung von ^3H -Index und Turn- over	13
Untersuchungsprogramm und spezielle Methodik	14
Auswertung der Autoradiogramme	15
Ergebnisse und Auswertung	15
1. An unbehandelter Haut (Kontrolle Ohr/Rücken)	16
2. Mit beginnender Salbenbehandlung	17
3. Nach 7-tägiger Vaselineeinreibung	18
4. Untersuchung der täglichen Er- neuerungsrate	20

Teil III. Messung des Zellzyklus	21
Spezielle Methodik	21
Ergebnisse und Auswertung	22
1. An unbehandelter Rückenhaut ...	22
2. Nach 7-tägiger Applikation von weißer Vaseline	22
Besprechung der Ergebnisse von Teil I, II, III	23
Zur Pathogenese der Akanthose	35
Zusammenfassung	37
Literaturnachweis	41
Lebenslauf	47

E i n l e i t u n g

=====

Eine der typischsten Reaktionsweisen der Epidermis ist die reizbedingte Verdickung (Akanthose). Untersuchungen über dieses Phänomen reichen zurück in die Anfänge der experimentellen Dermatologie.

HODARA (1900 (17)) zeigte erstmalig, daß die wiederholte Applikation einer Chrysarobin-salbe mit Vaselinum flavum als Grundlage an der Haut des Meerschweinchens eine kräftige Verdickung der Epidermis hervorrief.

JADASSOHN (20) setzte diese Versuche 1944 fort.

GAUDIN (1948 (10)) erzeugte mit gelber Vaseline allein eine mittelstarke Akanthose. Er fand ferner, daß mechanisches Bearbeiten der Haut zu einer geringen Epidermisverbreiterung führte.

Im Vordergrund stand die Suche nach einem geeigneten Testverfahren, um Wirksamkeit und Verträglichkeit verschiedener Salbengrundlagen experimentell zu untersuchen (BERRES, BRUN, BUJARD und JADASSOHN, HEITE, SCHAAF und GROSS, STEIGLEDER u.a.).

Hinsichtlich der Ursache der Akanthosen-entstehung gehen die von den einzelnen Autoren

vertretenen Ansichten weit auseinander.

PINKUS (26) sieht die Ursache der Epidermishyperplasie in der nach mechanischer Bearbeitung der Haut auftretenden Abschlüpfung peroxymbildender Lipide.

SCHAAF und GROSS prägten 1953 den Begriff Akanthosfaktor, der später von BRUN, BUJARD, JADASSOHN (1955), BERRES (1956) und anderen übernommen wurde.

Nach VONKENNEL (1956 (33)) entspricht der Irritationsfähigkeit einer Substanz die Größe ihres Akanthosfaktors.

BERRES (1955 (2)) verknüpft intra- wie extrazelluläre Ödeme und zellige Exsudation mit weiteren Entzündungszeichen, die der Stärke der Akanthose entsprechen sollen, und stellt damit das entzündliche Geschehen in den Vordergrund pathogenetischer Überlegungen.

Eine weitere Differenzierung schufen SCHAAF und GROSS (1953 (29)). Sie unterscheiden zwischen Substanzen, die nur eine Epidermisverbreiterung (Schweinefett, Myristinsäure) oder nur eine toxische Reizwirkung (Entzündung, Ödem) hervorrufen, und solchen, unter denen Verbreiterung und Entzündung gemeinsam auftreten oder völlig ausbleiben. Zwischen 'Epidermisverdickung und anderen (toxischen) Wirkungen können Parallelen bestehen, müssen aber nicht'.

Als Ursache der Akanthose-Reaktion vermutet man physikalische Stoffeigenschaften, die sich auf die Löslichkeit bzw. den Verteilungsquotienten Lipoid/Wasser erstrecken.

Eine akanthogene Reizwirkung vermögen gleichfalls Röntgenstrahlen zu entfalten. So fand HEITE (1959 (11)) nach Röntgenbestrahlung der Haut Zeichen der Akanthose. Ein geringer Entzündungsreiz nach vorausgegangener Gewebsschädigung wird dabei als Ursache angenommen. Akanthose nach Vaselineapplikation wird in gleicher Weise als Folge einer unterschwelligen Reizwirkung gedeutet.

BERRES (1956 (3)) macht die akanthogene Wirkung von Salben von ihrer Permeationsgröße, der Durchlässigkeit für die Sekrete der Haut, abhängig. Nach BERRES ist die Epidermisverbreiterung das Produkt einer Sekretstauung mit nachfolgender Quellung der Epidermis, begleitet von vermindertem Zellabbau bei gleichbleibender Zellregeneration. Da sich unter Kunststoffkapseln Akanthosen erzeugen lassen, sei die Spezifität der Salbeneinwirkung auf die Veränderungen an der Meerschweinchenhaut abzulehnen.

JADASSOHN (1955 (4)) zeigte, daß experimentell erzeugte Akanthosen den entzündlichen Effekt höherer Reizquantitäten abschwächen oder verhindern können. Die Epidermishyperplasie soll, teleologisch gesehen, toxisch wirkenden Substanzen den Zugang zum kutan-vasculären Angriffspunkt erschweren.

Auf Salben mit hohem 'Akanthosfaktor' übertragen bedeute diese Tatsache, daß akanthotische Schranken entzündliche Reaktionen verhindern!

STEIGLEDER (1955 (31)) bemerkte bei auftretenden Akanthosen eine Verbreiterung des Gefäßbogens; die Capillaroberfläche wird vergrößert, um gefäßfernen Abschnitten die notwendige Energie zuzuführen.

Der für eine Epidermisverbreiterung verantwortlich gemachte Reizeffekt einer Salbe oder Salbengrundlage, dessen Größe oft in Form eines 'Akanthosfaktors' angegeben wurde, wird von HEITE (1959) als zu ungenau und daher nicht allgemein verwendbar abgelehnt. (14)

Über die Wirkung kochsalzhaltiger Salben im Akanthosetest berichtet HEITE 1966 (15). Danach kommt es bei physiologischer Konzentration (0,9 % NaCl in Eucerin cum aqua) neben maximalem Mitoseanstieg zu einer Epidermisquelle, welche zusammen mit dem akanthogenen Salbeneffekt zur Verbreiterung des Epithels führt. Höhere Salzkonzentrationen vermögen dagegen die erhöhte Mitoserate zu bremsen.

Die morphologisch-funktionellen Veränderungen bei der Entstehung der Akanthose beschränken sich im wesentlichen auf drei Hauptmerkmale :

1. Anstieg der Mitoserate (UNNA 1897 (32))
2. Zunahme der Zellagen
3. Intra- und extrazelluläre Ödeme (BERRES 1956 (3))

Genauere Untersuchungen über die Reaktion der Einzelzelle auf einen von außen gesetzten Reiz hin fehlen jedoch. Da zellreduplikative Veränderungen in der Basalzellschicht stattfinden, war es wichtig, die Reaktionsbereitschaft des teilungsfähigen Basalzellagers quantitativ zu erfassen. Eine ausgezeichnete Methode hierfür ist der autoradiographische Nachweis DNS-synthetisierender Zellen mittels ^3H -Thymidin-Markierung. Kennzeichnend für diese Methode ist ihre besondere Empfindlichkeit. Sie erlaubt die präzise Lokalisation praemitotischer Zellen sowie genaue Beobachtungen der Wanderungskinetik innerhalb des epidermalen Zellverbandes. Aussagen über die Einzelphasen des gesamten Zellzyklus sind - unter entsprechenden Versuchsbedingungen - ebenfalls möglich.

In dieser Arbeit soll deshalb über autoradiographische Untersuchungen der mit weißer Vaseline experimentell erzeugten Akanthose am Meerschweinchen berichtet werden. Wegen der

anatomisch-histologischen Verschiedenheit wurde dabei das Rückenepithel mit dem Ohrenepithel verglichen.

Experimentell untersucht und quantitativ bestimmt wurden :

1. Akanthosefaktoren.
2. Markierungsindices DNS-synthetisierender Zellen.
3. Epidermale Zellmauserung (Turnover).
4. Veränderungen in der Dauer der DNS-Synthesephasen am Rückenepithel.

V e r s u c h e

=====

Allgemeine Methodik.

Als Versuchstiere dienten männliche Albino-Meerschweinchen von 250 - 300 g Gewicht. Gegenüberliegende Hautareale des Rückens (12 x 4 cm) wurden im Ätherrausch vorsichtig epiliert und ein schmaler Haarstreifen zwischen den Hautfeldern stehengelassen.

Zwei Tage nach der Epilation wurde mit der Applikation von weißer und gelber Vaseline begonnen und mit der Fingerkuppe etwa 0,5 g täglich zur Mittagszeit mindestens 7 Tage lang gleichmäßig eingerieben. Am Ohr wurde die dem Kopf anliegende Innenseite mit Vaseline behandelt.

Normalerweise befanden sich je zwei Tiere in einem Käfig.

Alle Versuche wurden in 13 Versuchsreihen mit insgesamt 80 Meerschweinchen durchgeführt.

T e i l I
=====

An 26 Meerschweinchen wurden zunächst folgende Punkte untersucht :

1. Die Größe des 'Akanthosefaktors' nach Anwendung von gelber und weißer Vaseline.
2. Das Verhalten der akanthotischen Epidermis nach Absetzen der Vaselinebehandlung.
3. Die Reaktion der Epidermis auf Reiben ohne Vaselineapplikation.
4. Das unterschiedliche Verhalten von Ohr- und Rückenepithel nach Behandlung mit weißer Vaseline.

Spezielle Methodik :

Jeweils die rechte Hälfte der epilierten Hautflächen wurde mit Vaseline behandelt. Ein 1,5 - 2 cm breiter behaarter Streifen trennte beide Felder.

Von den Ohren wurde das rechte mit seiner dem Kopf anliegenden Epithelseite eingerieben.

Ein Epilieren erübrigte sich, da das Meerschweinchenohr einen nur geringen Haarbestand aufweist.

Die Tiere wurden durch Nackenschläge getötet, die zur Mittagszeit den verschiedenen Behandlungsfeldern entnommenen Hautproben 48 Stunden lang in 10% neutralem Formalin fixiert.

Nach dem Einbetten in Paraffin folgte normale histologische Aufarbeitung (Schnittdicke 5 μ) mit anschließender Haematoxylineosinfärbung.

Die Epidermisbreiten wurden okular-mikrometrisch gemessen (Leitz-Wetzlar 12,5 x).

Jeder Kurvenpunkt ist das Mittel von mindestens 10 Einzelwerten, die jeweils zwischen zwei Haarfollikeln bestimmt wurden.

In den Ohrpräparaten diente der der dorsalen Ohrseite zugehörige Muskel als Festpunkt für die histologische Auswertung des vorbehandelten Epithels.

Für die ventrale Unterseite des Ohres (= Außenfläche) waren vermehrte Anschnitte von Haarfollikeln charakteristisch.

Die Versuche wurden zunächst mit gelber, später nur mit weißer Vaseline durchgeführt.

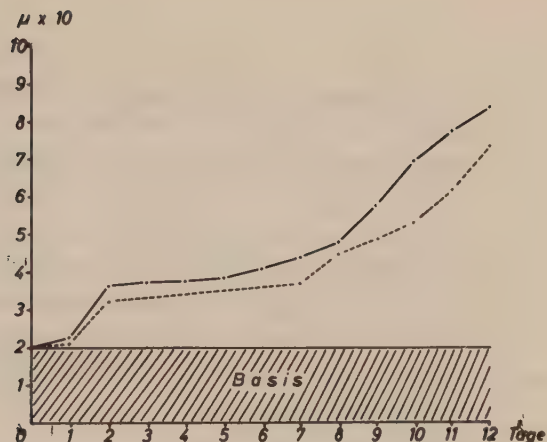
E r g e b n i s s e u n d A u s w e r t u n g

1. Wie die Abbildungen zeigen, verläuft die Dickenentwicklung nach gelber und weißer Vaselineapplikation unterschiedlich. Am zweiten Tag nach der Einreibung von gelber als auch weißer Vaseline kommt es zu einer deutlich erkennbaren Verbreiterung der Epidermis. Diese nimmt bis zum 7. Behandlungstag leicht zu, um anschließend rapide anzusteigen.
Der Verlauf beider Kurven ist nahezu parallel, die Differenz in der akanthogenen Wirkung der Salbengrundlagen (s. Tab. 1) beträgt im Mittel 0,9 = 13%, d.h. Vaselinum album bewirkt eine um 13% stärkere Verbreiterung der Epidermis.

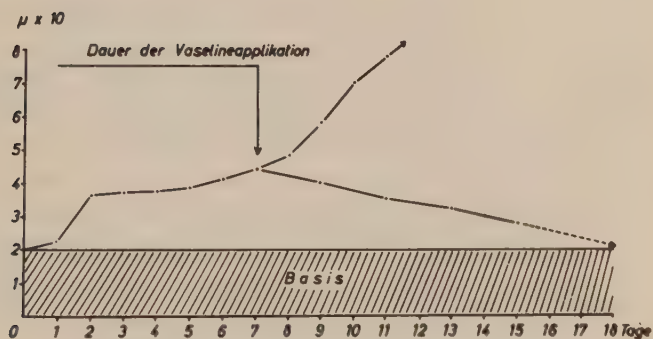
T a b e l l e 1 :

Behandlungs- tag	Vaselinum flavum	Vaselinum album	Differenz
2.	3,3	3,7	0,4
7.	3,6	4,3	0,7
8.	4,5	4,8	0,3
9.	4,8	5,7	0,9
10.	5,3	7,0	1,65
11.	6,1	7,7	1,6
12.	7,25	8,3	1,05

Zeitabhängige Zunahme der Epidermisverbreiterung. Angegebene Werte mal 10 μ



Kurve I : Entwicklung der Acanthose unter Vaseline-applikation.
 Ausgezogene Linie : weiße Vaseline,
 gestrichelte Linie : gelbe Vaseline.
 Das schraffierte Feld entspricht der an Kontrollwerten gemessenen Epidermisdicke.



Kurve II : Rückbildung der Epidermisverdickung nach Absetzen der Vaselineapplikation am 7. Tag.

Die Epithelbreite verdoppelt sich unter der Behandlung mit gelber Vaseline am 8. Tag, mit weißer Vaseline bereits nach 7 Tagen.

2. Zwei Tage nach Absetzen der Behandlung einer 7 Tage bestehenden Akanthose nimmt die Epidermisverdickung um den Faktor 0,25 pro die ab, so daß in 10 bis 12 Tagen nach beendeter Behandlung der Ausgangswert wieder erreicht wird.
3. Ein Vergleich zwischen einer 7 Tage mechanisch bearbeiteten (Reiben) und einer unbehandelten Epidermis zweier Meerschweinchen zeigte folgende Ergebnisse :

Tier Nr.	Reiben	Kontrolle
I	1,88	1,80
II	1,93	2,0

Angegebene Werte mal 10 μ

d.h. zwischen unbehandeltem und dem mit der Fingerkuppe bearbeiteten Hautareal besteht nach 7 Tagen ein Unterschied von 0,07 bis 0,08. Der mechanische Faktor bei der Akanthose-Entstehung ist demnach unerheblich, da schon normalerweise die Epithelbreiten der Kontrollfelder zwischen 1,8 und 2,2 variieren.

4. In Abbildung III und IV sind die an Rücken und Ohrepidermis gewonnenen Werte graphisch dargestellt.

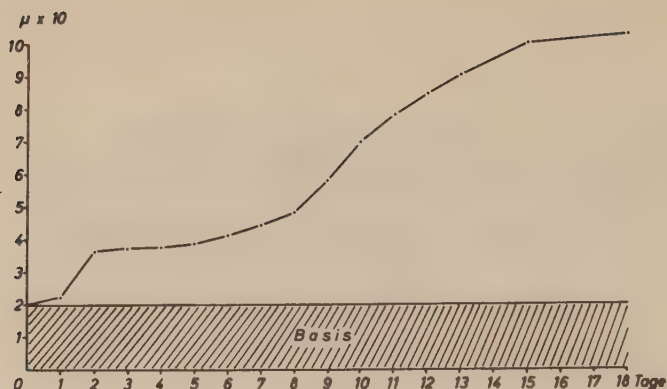
Bei vergleichender Betrachtung ergibt sich für Ohr und Rücken ein annähernd paralleler Kurvenverlauf. Gemeinsam ist beiden Kurven eine erste Plateaubildung, die vom 2. bis etwa 8. Tag andauert und über einen steilen Anstieg am 15. Tag ein neues Plateau erreicht.

Zu einer maximalen Verbreiterung beider Epithelien kommt es erst am 18. Tag nach fortlaufender Salbenbehandlung, eine weitere Steigerung darüberhinaus scheint nicht mehr einzutreten. Da die Ohrepidermis normalerweise um 2 Zellagen dicker ist als das Rückenepithel (Rücken 3 bis 4 Zellagen, Ohr 5 bis 7), erklären sich hieraus die unterschiedlichen Basiswerte von Abb. III (20 μ) und Abb. IV (30 μ). Besonders auffallend jedoch ist die wesentlich stärkere Verbreiterung des Rückenepithels!

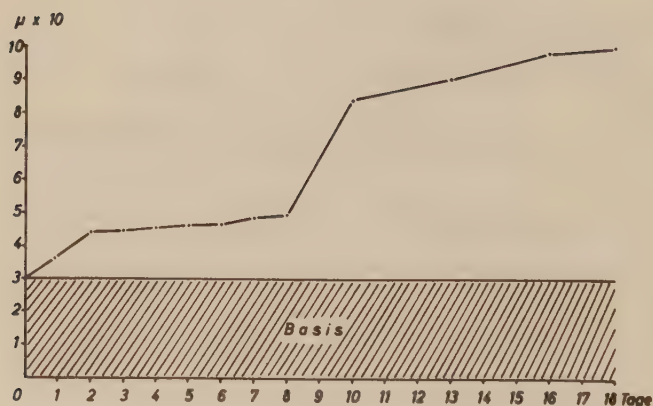
T a b e l l e 2 :

Behandlungstag	R ü c k e n		O h r	
	Kontrolle	Akanthose	Kontrolle	Akanthose
2.	2,1	3,7	3,1	4,35
7.	2,1	4,3	3,1	4,75
10.	2,1	7,0	3,1	8,3
18.	2,1	10,2	3,1	10,0

Zeitabhängige Zunahme der Epidermisverdickung von Ohr und Rücken.
 Angegebene Werte mal 10 μ .



Kurve III : Rücken : Akanthoseentwicklung des Rücken-
epithels nach Applikation von weißer
Vaseline.
Schraffiertes Feld : Epithelbreite der
Kontrollwerte.



Kurve IV : Ohr : Akanthoseentwicklung des Ohr-
epithels nach Applikation von weißer
Vaseline.
Schraffiertes Feld : Epithelbreite der
Kontrollwerte.

Bezogen auf die Basiswerte nimmt die Epidermisbreite des Rückens bis zum 18. Tag um das 3,85 fache zu, die des Ohres nur 2,2 fach. Am 18. Behandlungstag weisen beide Epithelien gleiche Dickenwerte auf. Derartige vergleichende Untersuchungen sind bislang nicht gemacht worden.

T e i l I I =====

Bestimmung von ^3I -INDEX und TURNOVERZEIT :

1. an unbehandelter Haut (Kontrolle Ohr + Rücken)
2. mit beginnender Salbenbehandlung (Ohr + Rücken)
3. nach 7-tägiger Vaseline-Einreibung und
4. Untersuchungen der täglichen Erneuerungsrate teilungsfähiger Zellager.

Es wurden in 6 Versuchsreihen 42 Meerschweinchen verwandt.

Spezielle Methodik : -----

Den Versuchstieren wurde 0,1 ml NaCl-Lösung an Rücken, bzw. Ohr intracutan injiziert. Die darin enthaltene Thymidin-³H-Aktivität betrug 5 - 10 μ Ci.; spezifische Aktivität 6,7 Ci/mMol (New England Nuclear Corporation).

Zur Feststellung des ³H-Index wurden jeweils 40' nach ³H-Injektion Gewebeproben am 1.-10., 13., 15. und 18. Tag entnommen. Zeit : 13 bis 15 Uhr.

Bei der Bestimmung des epidermalen Turnovers erfolgte die Gewebseentnahme der vorbehandelten Seiten wie der Kontrollseiten am 1.-11., 13., 15. und 18. Tag nach der Markierung, ungefähr zur gleichen Tageszeit, nachmittags zwischen 13 und 15 Uhr.

Die Objektträger waren mit einer Chrom-Alaun-Gelantine-Mischung vorbehandelt. Beschichtet wurden die 5 μ starken Schnitte mit Kodak-AR-10 stripping Film und nach einer Exposition von 15 Tagen (bei 4⁰ C) und anschließender Entwicklung durch die Filmschicht hindurch mit Haematoxilin-Eosin gefärbt.

Auswertung der Autoradiogramme

Der Background der Autoradiogramme war - von wenigen Ausnahmen abgesehen, die durch Nachschnitte wiederholt werden konnten - minimal und bei der Auswertung daher zu vernachlässigen.

Die Ermittlung des ^3H -Index erfolgte an 3000 bis 4000 ausgezählten Basalzellen bei einer Mindest-Kornzahl von 15 Silberkörnern/Zellkern.

Die Turnoverzeit wurde mit dem Auftauchen der ersten markierten Basalzellen im Stratum granulosum und am Stratum corneum festgelegt.

E r g e b n i s s e u n d A u s w e r t u n g

=====

1. Markierungsindex :

In den Kontrollpräparaten liegt der normale Markierungsindex (^3H -Index) des Ohrepithels um 50% höher als die für das Rückenepithel gemessenen Basiswerte. Am 1. Tag nach Vaselineapplikation kommt es an beiden Epithelien zu

einer Indexsteigerung von 70%, die auch nach 7-tägiger Einreibung (mit daran sich anschließender Markierung) noch fortbesteht (s. Tab. III).

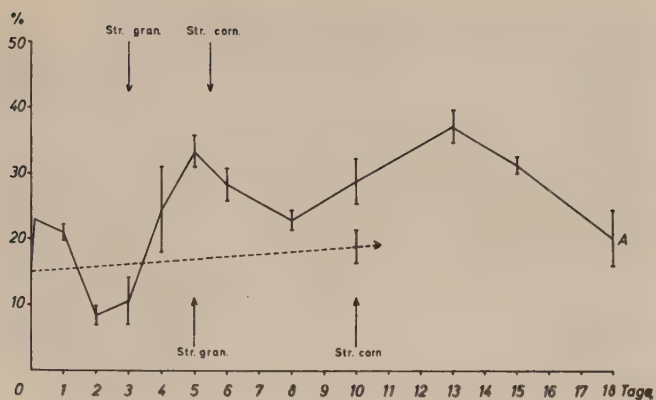
T a b e l l e I I I :

Behandlungstag	R ü c k e n		O h r	
	Kontrolle	Akanthose	Kontrolle	Akanthose
1.	14%	24 $\pm$ 1%	20 $\pm$ 2%	33%
7.	15%	23%	19 $\pm$ 1%	34 $\pm$ 1%

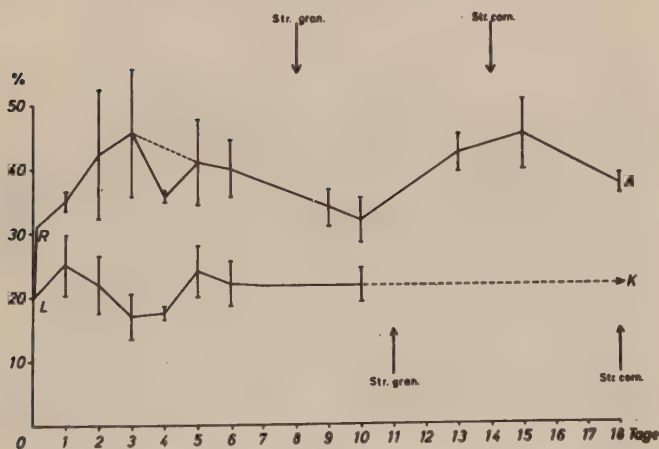
Angegebene Werte = ^3H -Index (Basalzellen)

Rücken :

Eine genauere Analyse der basalzellulären DNS-Synthese unter Vaselinebehandlung zeigen die Kurven IIIa und IVa. Danach kommt es am Rückenepithel mit beginnender Vaselinebehandlung zu einer Abnahme des ^3H -Index. Die ansteigenden Werte erreichen am 5. Tag mit einer Zunahme von 45% ein erstes Maximum. Es folgt ein weiterer Abfall am 8. Tag, daran anschließend wird am 13. Tag ein zweites Maximum erreicht, das zum 18. Tag hin wieder abnimmt.



Kurve IIIa : Rücken : ^3H -Index nach kontinuierlicher Vaselineapplikation.
Entnahme 40' nach ^3H -Injektion.
Auszählung als Prozentsatz markierter Basalzellen.



Kurve IVa : Ohr : ^3H -Index nach kontinuierlicher Vaselineapplikation.
Entnahme 40' nach ^3H -Injektion.
Auszählung als Prozentsatz markierter Basalzellen.

Ohr :

Auch die ^3H -Indexbestimmung am Ohrepithel weist eine zweigipfelige Kurve auf, bei der jedoch das anfängliche Absinken unter die Ausgangswerte am 2. und 3. Tag ausbleibt. Außerdem erfolgt der zweite Kurvenanstieg mit einer Verzögerung von etwa 2 Tagen. Das zweite Maximum wird am 15. Tag erreicht, zum 18. Tag hin nähert sich die Kurve wieder ihrem Ausgangswert. Insgesamt läßt sich somit sagen, daß am Ohr ein zeitlich verzögerter, sonst in etwa identischer Kurvenverlauf zu verzeichnen ist.

Bei der vergleichenden Betrachtung von Kontroll- und Akanthoseepithel des Rückens beschränkt sich die gefundene Markierung durchweg auf das Basalzellager, während am Ohr unter Akanthose vermehrt suprabasal markierte Zellen auftreten.

2. Turnover (epidermale Erneuerungsrate) :

24 Stunden nach erfolgter ^3H -Thymidin-Markierung finden sich markierte Zellkerne vermehrt im suprabasalen Zellager. In den folgenden Tagen zeigen sich stark markierte Zellen im Bereich des Rete malpighi, vereinzelt ist ein unregelmäßiges Aufsteigen (s. Abb. 3) von Tochterzellen zu beobachten. Unter Akanthosebedingungen ist der gleiche

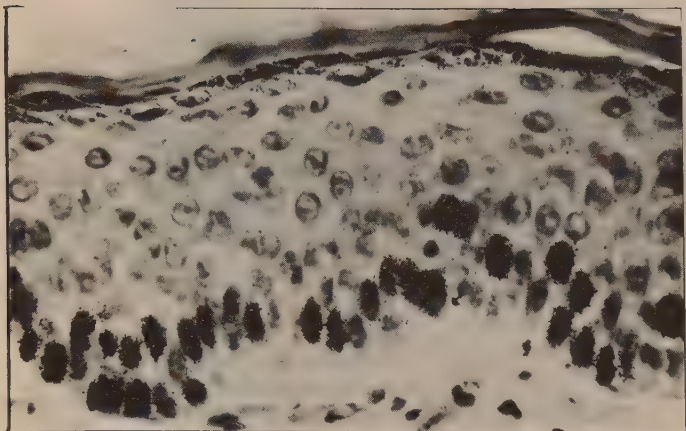


Bild 1 : Akanthotisches Ohrepithel 13 Tage nach kontinuierlicher Vaselineapplikation. Suprabasale Markierung 40' nach intracutaner Injektion von 0,1ml ^3H -Thymidinlösung. (Aktivität 5-10 $\mu\text{Ci/ml}$). Autoradiogramm. Färbung : H.-E. Mikr.Vergr. 160x

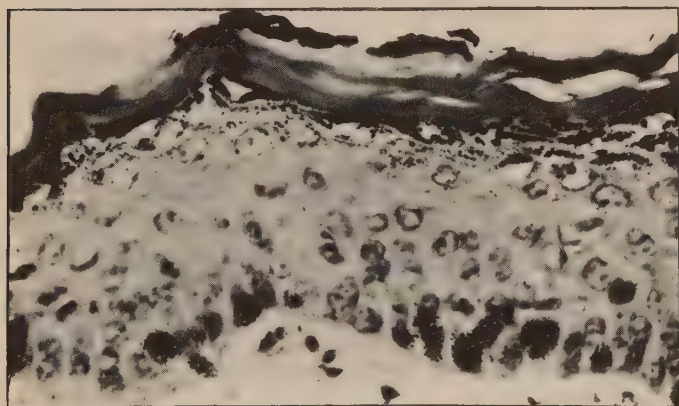


Bild 2 : Akanthotisches Rückenepithel 13 Tage nach kontinuierlicher Vaselineapplikation. Im Gegensatz zum Ohrepithel finden sich 40' nach HTD-Injektion markierte Zellen nur im Basalzellager. Autoradiogramm. Färbung : H.-E. Mikr.Vergr. 160x

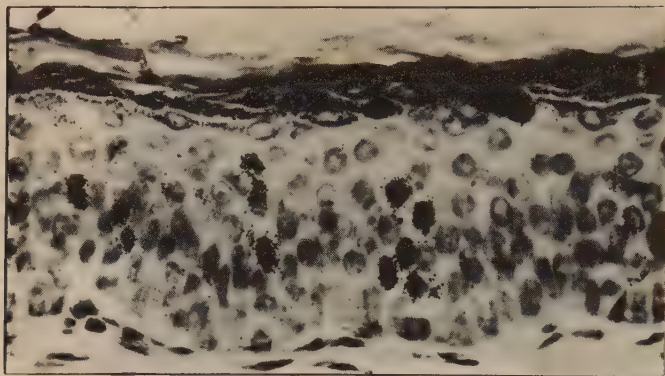


Bild 3 : Unbehandelte Ohrkontrolle 16 Tage nach HTD-Markierung. Stark markierte Zellen am Str. granulosum, unregelmäßig aufsteigende, schwächer markierte Tochterzellen im Bereich des Str. spinosum. Autoradiogramm. Färbung : H.-E. Mikr. Vergr. 160x

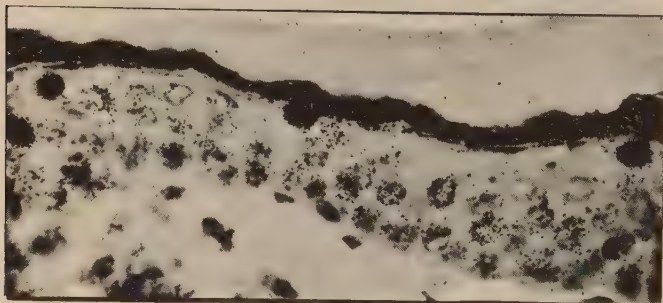


Bild 4 : Akanthotisches Rückenepithel 6 Tage nach HTD-Markierung. Zahlreiche Silbergranula über fast allen Basal- und Str. spinosumzellen. Autoradiogramm. Färbung : H.-E. Mikr. Vergr. 160x

morphologische Befund zu erheben, allerdings mit zeitlich beschleunigtem Ablauf. Eine am Ohr fehlende Besonderheit weist das akanthotische Rückenepithel auf. Wie die Abbildungen 4 und 5 zeigen, finden sich 6 Tage nach Markierung einer 7 Tage alten Akanthose neben den aufgestiegenen, stark markierten Tochterzellen zahlreiche Silbergranula über fast allen Basal- und Stratum spinosum-Zellen. (Auf der Kontrollseite ist dieses Phänomen nach 8 Tagen zu beobachten). Ein Befund, der bei längerer Exposition besonders augenscheinlich wird.

Am Rücken erreichen die ersten markierten Zellkerne der Kontrollseite zwischen dem 4. und 6. Tag das Str. granulosum, (das Hauptkontingent markierter Zellen nach weiteren 3 Tagen), Silberkörner über den basalen Partien des Str. corneum zwischen dem 8. und 10. Tag weisen auf die fortgesetzte Wanderung nach peripher hin.

Unter Akanthose wird das Str. granulosum zwischen dem 3. und 4. Tag, das Str. corneum am 5. bis 6. Tag erreicht, d.h. unter Akanthosebedingungen sind die ersten markierten Zellen 1,5 Tage eher im Str. granulosum und 3,5 Tage früher im Str. corneum, als die ersten markierten Zellen der Kontrollseite.

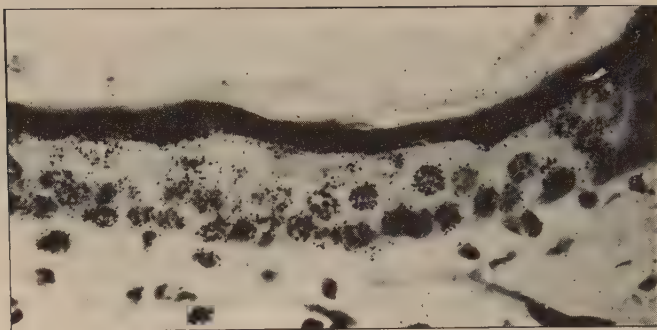


Bild 5 : Kontrollepithel Rücken 8 Tage nach HTD-Markierung. Die unter Akanthose bereits am 6. Tag vorhandene Silberkörnschwärzung über den Tochterzellen läßt sich am Kontrollepithel erst 2 Tage später beobachten.
Autoradiogramm. Färbung : H.-E.
Mikr. Vergr. 160x

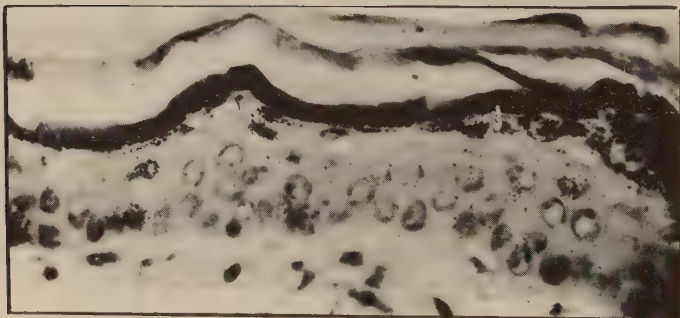


Bild 6 : Kontrollepithel Rücken 5 Tage nach HTD-Injektion. Die ersten markierten Zellen haben das Str. granulosum erreicht.
Autoradiogramm. Färbung : H.-E.
Mikr. Vergr. 160x



Bild 7 : Kontrolle Rücken 8. Tag nach HTD-Injektion.
Silbergranula an der Grenze zum Str. corneum.
Autoradiogramm. Färbung : H.-E.
Mikr. Vergr. 160x

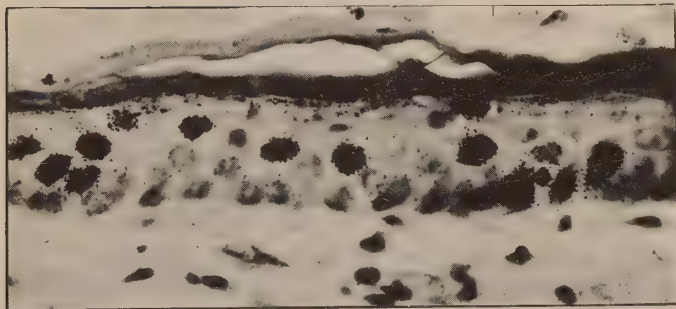


Bild 8 : 3 Tage alte Rückenakanthose 3. Tag nach
H-Markierung. Markierte Tochterzellen
erreichen das Str. granulosum.
Autoradiogramm. Färbung : H.-E.
Mikr. Vergr. 160x

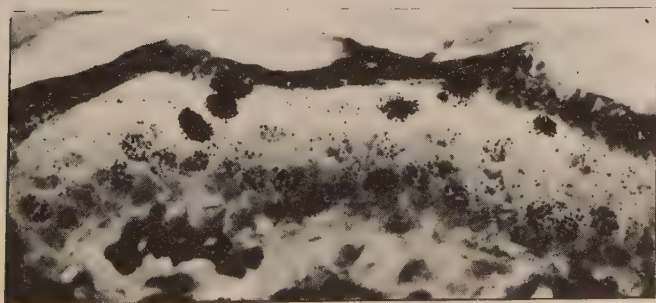


Bild 9 : Akanthotisches Rückenepithel 6 Tage nach
HTD-Injektion. Markierte Zellen an der
Grenze zum Str. corneum. Silberkornschwär-
zung über fast allen Zellen des Str. spinosum
Autoradiogramm. Färbung : H.-E.

Am Ohr erreichen die ersten Zellen der Kontrollseite am 11. Tag das Str. granulosum, zwischen dem 16. und 17. Tag das Str. corneum. Unter Akanthosebedingungen: am (8.) bis 9. Tag das Str. granulosum und zwischen dem 13. und 15. Tag das Str. corneum.

Im Vergleich zur Kontrollseite beträgt die Verkürzung der Turnoverzeit für das vorbe-handelte Ohr bis zum Str. granulosum 2,5 Tage, bis zum Str. corneum 3 bis 4 Tage.

Unabhängig vom Zeitpunkt der Markierung, d.h. einmal zum Zeitpunkt der ersten Vaselineeinreibung, zum anderen nach 7-tägiger Vaselinebehandlung, ist die Dauer der epidermalen Zellwanderung, sowie die Höhe des ³H-Index unter beiden Versuchsbedingungen in etwa gleich.

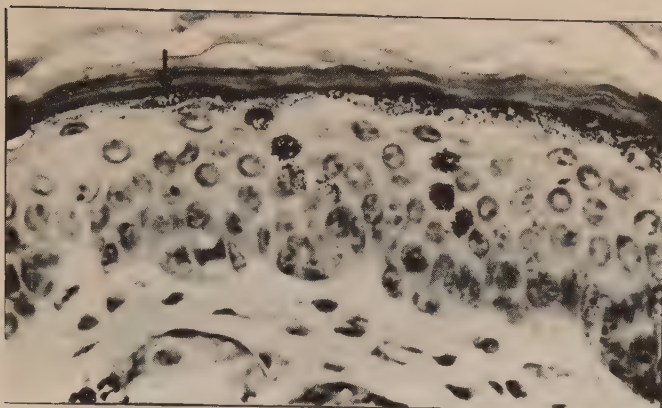


Bild 10 : Ohrepithelkontrolle. 11 Tage nach HTD-Injektion erreichen markierte Tochterzellen das Str. granulosum.
Autoradiogramm. Färbung : H.-E.
Mikro. Vergr. 160x

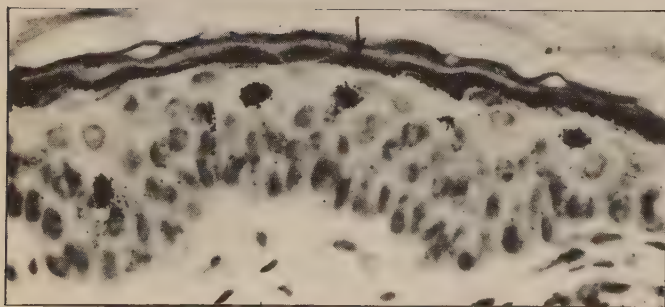


Bild 11 : Ohrkontrolle. 16 Tage nach Markierung haben markierte Tochterzellen das Str. granulosum durchwandert und befinden sich an der Grenze zum Str. corneum.
Autoradiogramm. Färbung : H.-E.
Mikr. Vergr. 160x

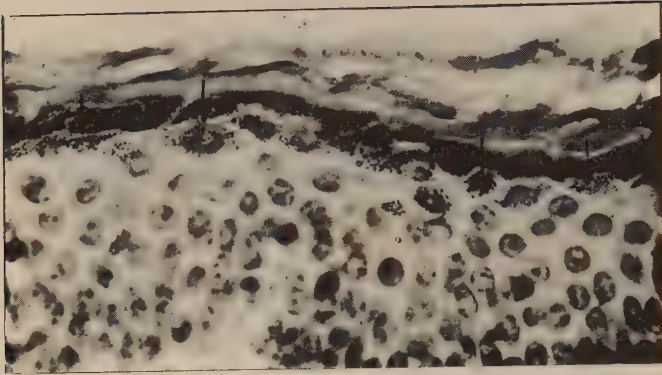


Bild 12a : Akanthotisches Ohrepithel 8. Tag
nach HTD-Markierung.

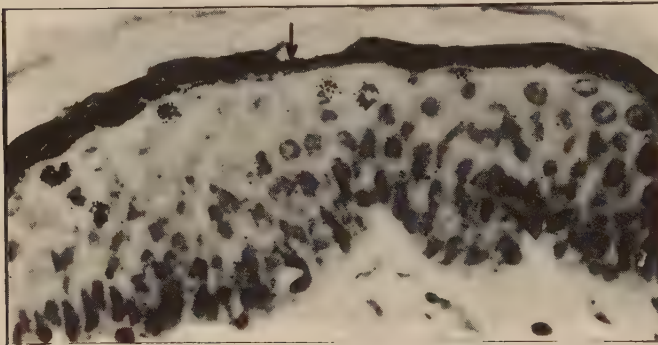


Bild 12b : Unter Akanthose finden sich am 8. Tag nach
HTD-Markierung (s. oben) Silberkörner über
Str. granulosum-Zellen, am 14. Tag an der
Grenze zum Str. corneum.
Autoradiogramm. Färbung : H.-E.
Mikr. Vergr. 160 x

T a b e l l e IV :

	R Ü C K E N		O H R	
Markierung bei Behandlungsbeginn	Kontrolle	Akanthose	Kontrolle	Akanthose
Turnover < Str.gran.	4.-5.Tag	3.Tag	11.Tag	9.Tag
Str.corn.	8.-9.Tag	5.-6.Tag	16.-18.Tag	13.-14.Tag
^3H -Index	14%	24 $\pm$ 1%	20 $\pm$ 2%	33%
Markierung nach 7- tägiger Behandlung	Kontrolle	Akanthose	Kontrolle	Akanthose
Turnover < Str.gran.	4.-6.Tag	3.-4.Tag	11.Tag	8.-9.Tag
Str.corn.	8.-10.Tag	5.-6.Tag	18.-20.Tag	15.Tag
^3H -Index	15%	23%	19 $\pm$ 1%	34 $\pm$ 1%

Zusammenstellung der gemessenen Turnover-
werte und ^3H -Indices.

Die angegebenen Werte für Turnover ent-
sprechen der Wanderungszeit der ersten
markierten Tochterzellen bis zu der
betreffenden Zellschicht.

(Str. granulosum oder Str. corneum)

T e i l III
=====

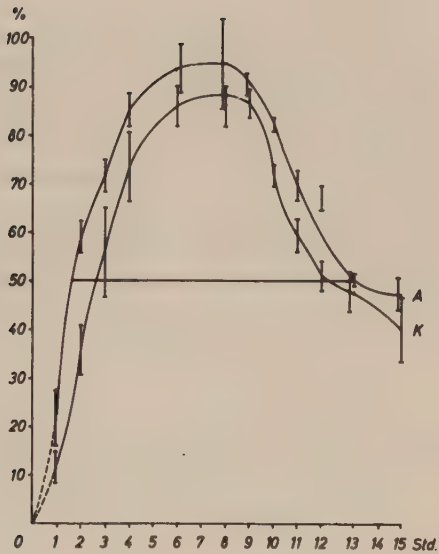
Messung des Zellzyklus

1. an unbehandelter Rückenhaul
2. nach 7-tägiger Applikation von weißer Vaseline.

Spezielle Methodik :

12 Meerschweinchen erhielten nach 7-tägiger Vaselinebehandlung 5-10 μ Ci. HTD in 0,1 ml Kochsalzlösung pro Rückenhautareal intracutan injiziert.

Die Tiere wurden zu 12 verschiedenen Zeiten zwischen 1 und 15 Stunden nach HTD-Injektion getötet. Aus den angefertigten Autoradiogrammen wurde anschließend der Prozentsatz ^3H -markierter Mitosen, bezogen auf die Gesamtzahl aller Mitosen, ermittelt. Bei der Auszählung der markierten und nicht markierten Mitosen wurden alle sichtbaren Teilungsbilder gezählt, etwa 200-250 Mitosen aus mehreren histologischen Schnitten eines Präparates.



Kurve V : Messung des Zellzyklus an unbehandeltem und akantnotischem Rückenepithel. 8 Stunden nach ITD-Injektion finden sich markierte Mitosen zu maximal 95%.
A = Akanthoseepithel, K = Kontrollepitheel.

E r g e b n i s s e u n d A u s w e r t u n g

In Kurve V ist der Prozentsatz markierter Mitosen und der Zeitabstand zwischen Markierung und Gewebsentnahme dargestellt.

Das Minimum der G_2 -Phase wird mit dem Auftauchen der ersten markierten Mitosen festgelegt. Den ansteigenden Teil der Kurve bilden Zellen mit abgeschlossener DNS-Synthese, den absteigenden Teil solche, die gerade in die DNS-Phase eingetreten sind. Der niedrigste und höchste Punkt der ansteigenden Kurve entspricht der minimalen und maximalen Dauer der G_2 -Phase; der 50% Wert, der mittleren G_2 -Phasedauer plus der Hälfte der Mitosezeit.

Die Abbildung gibt die Kurven von unbehandelter Rückenhaul - und nach 7-tägiger Einreibung - wieder. Der Prozentanteil markierter Mitosen beträgt maximal 95% nach 8 Stunden. Der Verlauf der Kurven zeigt keinen signifikanten Unterschied zwischen Kontroll- und Akanthoseseite. Bei 50% aller vorhandenen Mitosen wurde die Dauer der S-Phase für die Kontrollseite mit 9,5 Stunden, für die Akanthoseseite mit 11,5 Stunden ermittelt. Die S-Phase des akanthotischen Rückenepithels scheint demnach um 2 Stunden gegenüber der Kontrollseite verlängert zu sein.

B E S P R E C H U N G d e r E R G E B N I S S E

=====

Teil I

1. Um mit der Methodik der experimentellen Akanthoserzeugung vertraut zu werden, wurden als erstes Vorversuche mit gelber und weißer Vaseline unternommen. In Übereinstimmung mit anderen Autoren (1, 13, 21) konnte der klinisch bekannte Unterschied der im Vergleich zur gelben Vaseline stärkeren Akanthoserausbildung nach weißer Vaseline an der Rückenhaut des Meerschweinchens durch mikrometrische Dickenmessungen des Epithels bestätigt werden. Weiße Vaseline hat demnach einen im Mittel um 0,9 stärkeren 'Akanthosefaktor' als gelbe Vaseline und führt nach 7-tägiger Behandlung zu einer Verdoppelung der Epithelbreite, gelbe Vaseline bewirkt diesen Effekt erst nach 8 Tagen.

2. Von GAUDIN und anderen Autoren (10, 26) wird nach mechanischer Bearbeitung der Haut eine leichte Epidermishyperplasie erwähnt. Aufgrund eigener Versuche scheint der mechanische Faktor bei der Akanthosentstehung unerheblich zu sein, da die

Ergebnisse (1,88 bzw. 1,93) in den Bereich der Normalwerte (1,80 bzw. 2,20) unbehandelter Rückenhaut fallen.

3. Zwei Tage nach Absetzen der Vaselineeinreibung kommt es zu der schon von BERRES (1956 (3)) beschriebenen deutlichen Rückbildung der epidermalen Veränderungen. Der Ausgangswert der Kontrollseiten wird nach 10 bis 12 Tagen wieder erreicht.

4. Vergleicht man die Akanthosen von Ohr und Rücken miteinander, so ergeben sich simultane Verhaltensweisen beider Epithelien, nämlich: eine Plateaubildung bis zum 8. Tag mit anschließender maximaler Verbreiterung am 18. Tag nach Beginn der Vaselineapplikation. Bei der Auszählung der Zellagen hat sich nach 18-tägiger Vaselineeinreibung die Zahl der Zellagen am Rücken mehr als verdreifacht, die Epithelbreite sogar vervierfacht.

Am Ohr finden wir nach dieser Zeit nur doppelt so viele Zellagen, bei der Messung der Epithelbreite eine 2,4 fache Zunahme. Somit kann man feststellen, daß die akanthogene Wirkung der Vaseline am Ohr wesentlich schwächer wirksam wird. Eine Erklärung liegt möglicherweise in

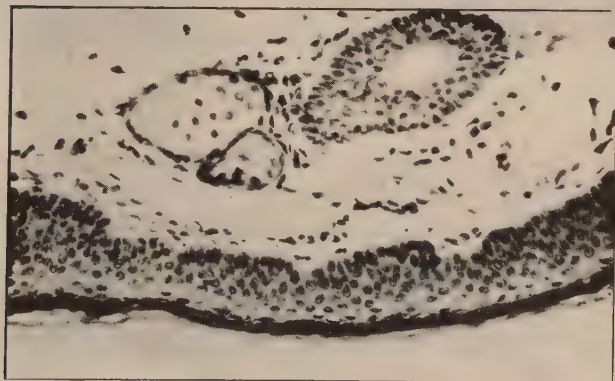
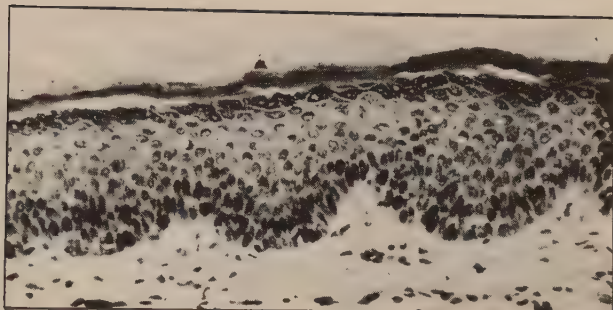


Bild 13 : Ventrales und dorsales Ohrepithel, 13 Tage
 nach kontinuierlicher Vaselineeinreibung.
 Dorsales Epithel : mit Vaseline behandelt,
 wellenförmiger Verlauf der Basalmembran,
 deutliches Str. granulosum, suprabasale
 Markierung 40' nach HTD-Injektion.
 Ventrales Epithel: unbehandelt, glatter Ver-
 lauf der Basalmembran, unauffälliges Str.
 granulosum, schwächere basalzelluläre Markie-
 rung, Haarfollikel- und Talgdrüsenanschnitte.
 Autoradiogramm. Färbung : H.-E.
 Mikr. Vergr. 64x

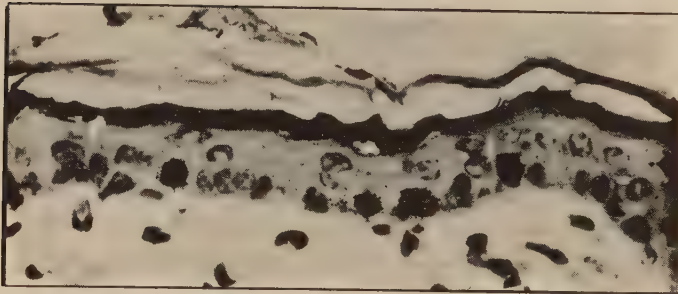
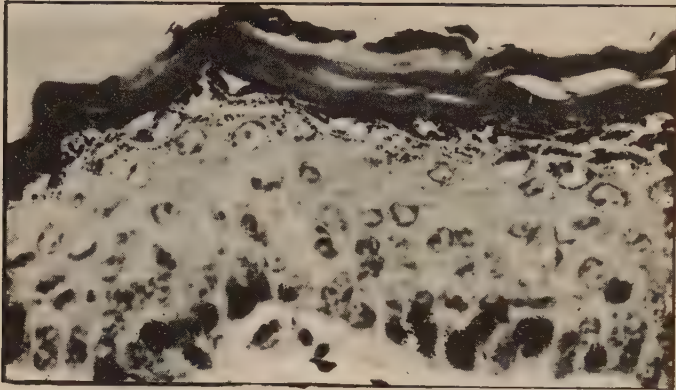


Bild 14 : Gegenüberstellung : behandeltes Rücken-
 epithel (13 Tage) und unbehandeltes Kon-
 trollepithel. Im Vergleich zur jeweiligen
 Kontrolle ist die Verdickung des akantho-
 tischen Epithels am Rücken ausgeprägter als
 am Ohr. Beide Präparate zeigen 40' nach HTD-
 Injektion basalzelluläre Markierung.
 Autoradiogramme. Färbung : H.-E.
 Mikr. vergr. 160x

der schon normalerweise um $1/3$ stärkeren Epithelbreite des Ohres.

Histologisch zeigt sich am Ohr eine ausgeprägtere Retezapfenbildung, am Rücken kommt es eher zu einer gleichmäßigeren Verbreiterung ohne wellenförmigen Verlauf der Basalmembran.

Teil II :

1. Von UNNA (32) wird 1887 erstmalig eine bei Akanthosen erhöhte Mitoserate erwähnt. Eigene Zählungen DNS-synthetisierender Zellen konnten dieses Phänomen bestätigen. Beide Hautareale weisen histologisch deutliche Unterschiede auf, dementsprechend verhalten sich auch die ^3H -Indices der Kontrollfelder von Ohr ($\sim 19\%$) und Rücken ($\sim 15\%$).
2. Die epidermale Erneuerungsrate unterscheidet sich hinsichtlich ihrer Dauer - einmal mit beginnender Einreibung, zum anderen nach 7-tägiger Behandlung - nur geringfügig (s. Tab. IV).

3. Das bedeutet für die Dauer der Zellwanderung, daß diese sofort nach der Vaselineeinreibung beschleunigt wird und nach 7-tägiger Behandlung keine weitere Steigerung mehr erfährt (s. Tab. IV und V).

4. Gemeinsames Zeichen beider Epithelien ist die unter Akanthose beschleunigte Zellwanderung von 4,5 Tagen (s. Tab. IV). Sie ist gegenüber den Kontrollseiten um 2 Tage verkürzt, so daß die unterschiedliche Dauer des epidermalen Turnovers vor allem der Zeitspanne vom Str. basale bis zum Str. granulosum zuzuschreiben ist. Vaselineeinreibungen führen also zu einer um 2 Tage verkürzten Wanderungszeit zwischen Str. basale und Str. granulosum und zu der insgesamt um 4,5 Tage beschleunigten Turnoverzeit.

T a b e l l e V :

Markierung nach 1. Behandlungstag	str. gran. → str. corn. 5 Tage	Kontrolle
7. Behandlungstag	str. gran. → str. corn. 5-6 Tage	1.
1. Behandlungstag	str. gran. → str. corn. 2-3 Tage	Akanthose 2.
7. Behandlungstag	str. gran. → str. corn. 2-3 Tage	
1. Behandlungstag	str. gran. → str. corn. 6 Tage	Kontrolle 3.
7. Behandlungstag	str. gran. → str. corn. 7 Tage	
1. Behandlungstag	str. gran. → str. corn. 4-5 Tage	Akanthose 4.
7. Behandlungstag	str. gran. → str. corn. 6-7 Tage	

Hinsichtlich der Durchwanderungsgeschwindigkeit markierter Zellen durch das Str. granulosum zeigen Ohr und Rückenepithel folgende Unterschiede :

An beiden Kontrollen (Ohr und Rücken (s. Spalte 1 und 3/Tab. V)) durchlaufen die Zellen das Str. granulosum in etwa 6 Tagen, d.h. daß dieser Teil des epidermalen Turnovers für beide Epithelien ziemlich konstant ist. Auch histologisch war kein Unterschied in der Dicke des Str. granulosum beider Epithelien festzustellen.

Während nun unter Akanthosebedingungen (s. Spalte 4/Tab. V) die Zellen der Ohrepidermis nur geringfügig beschleunigt nach peripher wandern, nämlich zwischen 4,5 und 6,5 Tagen, verkürzt sich die Erneuerungsrate des Str. granulosum am Rücken auf die Hälfte dieses Zeitraumes, nämlich auf 2-3 Tage (s. Spalte 2).

Grundsätzlich läßt sich somit feststellen:
Für das Kontrollepithel des Rückens beträgt die Turnoverrate 12 Tage, am Ohr ist diese Zeit auf 19 Tage verlängert. An beiden Epithelien ist die Durchwanderungszeit für das Str. granulosum gleich; es folgt daraus, daß das Str. spinosum des Ohres im Vergleich zum Rücken nur mit der Hälfte der Geschwindigkeit durchwandert wird.

Unter Akanthosebedingungen verkürzt sich die Mauserungsrate für das Str. spinosum beider Epithelien um die gleiche Zeitspanne, nämlich um 2 Tage.

Interessanterweise bleibt jedoch unter Akanthose für das Str. granulosum des Ohres eine Änderung der Durchwanderungsrate aus, (Kontrolle 6 Tage, Akanthose 4,5 bis 6,5 Tage), während sich am Rücken die Wanderungszeit um die Hälfte verkürzt (Kontrolle 6 Tage, Akanthose 2 bis 3 Tage).

Hieraus erklärt sich die um ein beträchtliches (mehrals 50%) verkürzte Turnoverrate des Rückenepithels, wohingegen am Ohr diese Zeit sich lediglich um 17% verkürzt.

Der Angelpunkt für diese unterschiedliche Reaktionsform der Epidermis des Ohres scheint nach unseren Befunden darin zu liegen, daß das Str. granulosum des Ohres sich unter der Reizwirkung der Akanthose nicht in seiner Syntheseleistung beeinflussen läßt.

Es muß darauf hingewiesen werden, daß, obgleich bei beiden Epithelien der ^3H -Index am 7. Tag nach Akanthosebeginn (bzw. am 1. Tag nach Vaselineapplikation und daran sich anschließen-der Markierung) um 70% zunimmt, die Durchwanderungszeit am Ohr nur etwa um 17% beschleunigt wird, am Rücken dagegen um 50%. Die Diskrepanz erklärt sich unserer Meinung nach mit einer bei

länger bestehender Akanthose zunehmenden Retezapfenbildung der Ohrepidermis. Mit dieser Verlängerung der Basalmembran pro Str. corneum-Längen-Einheit besteht die Möglichkeit, neugebildete Zellen aufzufangen. Am Rücken kommt es grundsätzlich nicht zu diesen wichtigen morphologischen Veränderungen.

Bei der Messung der Zeitspanne, die markierte Zellen zur Durchwanderung des Str. granulosum benötigen, ist weiterhin zu erwähnen, daß der Eintritt ^3H -markierter Zellen in das Str. corneum wegen hochgradigen Schwundes an Silbergranula nicht präzise festzulegen ist.

Alle angegebenen Turnoverwerte verstehen sich nur für Zellen, welche als erste das Str. granulosum erreichen und durchwandert haben, das Hauptkontingent markierter Zellen benötigt durchschnittlich 3 bis 5 Tage länger. Da die Dickenmessungen an gleichzeitig ^3H -markierten Autoradiogrammen vorgenommen wurden, lassen sich ^3H -Index und epidermales Turnover dazu in eine Beziehung setzen.

Rücken

Vergleicht man Kurve IIIa mit den Messungen der akanthotischen Epidermisverbreiterung, so erscheint der Zeitpunkt, an dem die ersten markierten Zellen das Str. granulosum erreichen

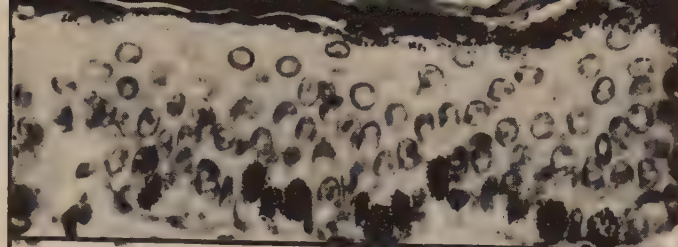
mit einer Plateaubildung auf der Kurve III zusammenzufallen.
Der Abfall der ^3H -Indexwerte hat einen Tag vor dem Eintritt der ersten Zellen ins Str. granulosum seinen tiefsten Punkt erreicht. Vom 3. Tag an folgt ein steiler Anstieg, dessen Dauer genau der Wanderungszeit markierter Zellen zwischen Str. granulosum und Str. corneum entspricht. Die in Kurve IIIa erkennbaren, sich wellenförmig verhaltenden ^3H -Indices lassen auf eine partielle Synchronisation schließen, die außer einer Tendenz zum Längerwerden noch eine Adaptation an die Noxe zeigen. Aufgrund der vorhandenen Werte würden am verdickten Rückenepithel neugebildete Basalzellen in jeweils 6 Tagen das Str. corneum erreichen können.

Ein Absinken des ^3H -Index unter die Kontrollwerte am Rücken läßt eine initiale Hemmung der DNS-Synthese durch die applizierte Vaseline möglich erscheinen. Am Ohr ist diese Dämpfung nicht zu verzeichnen; welche Rolle die physiologischerweise vorhandene Epithelbreite des Ohres spielt, kann hier nicht beantwortet werden.

Ohr

Für das Ohr gelten prinzipiell dieselben Verhältnisse wie am Rücken. Zur Plateaubildung wird ein Vielfaches an Zellen be-

dorsal



ventral

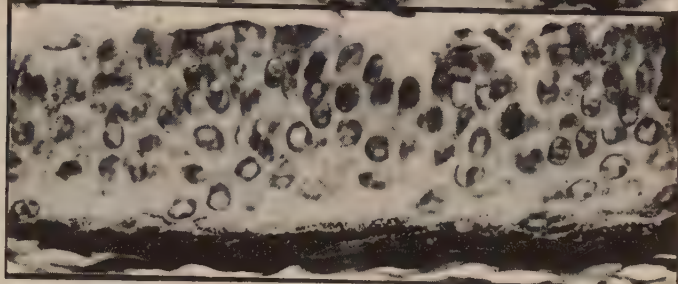
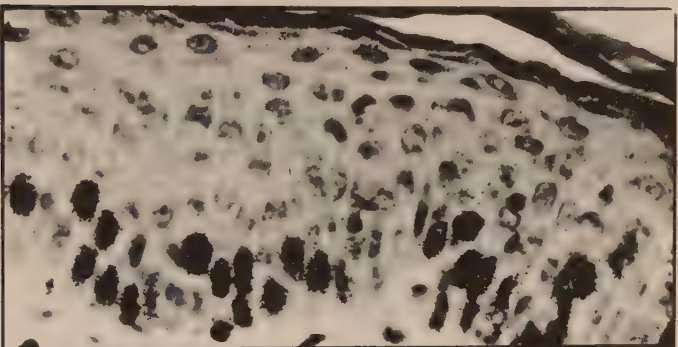


Bild 15 : Kontrollepithel Ohr. Mitmarkierung der ventralen Epithelseite. Autoradiogramme 40' nach HTD-Injektion.
Färbung : H.-E.
Mikr. Vergr. 160x

dorsal



ventral

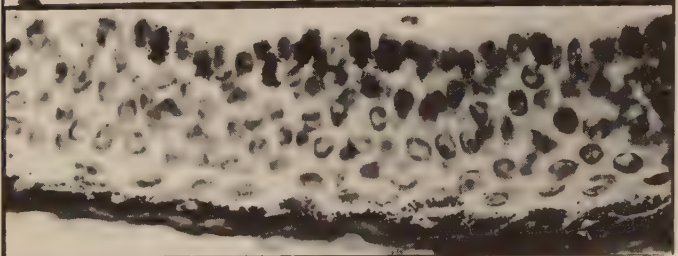


Bild 16 : Dorsales akantotisches Ohrepithel 13 Tage mit Vaseline behandelt. Auch hier Mitmarkierung der ventralen unbehandelten Epithelseite. Stärkere Silberkornschwärzung, auch ventral, im Vergleich zum unbehandelten Kontrollepithel. Autoradiogramme, 40' nach HTD-Markierung.
Färbung : H.-E.
Mikr. Vergr. 160x

nötigt - weit mehr als am Rücken - wie aus dem am 3. Tag um 50% gesteigerten Index zu ersehen ist.

Vergleicht man aber die Anfangswerte von Ohr und Rücken (s. Tab. III), so entsprechen sich beide akanthotischen ^3H -Indexsteigerungen. Das bedeutet: Ausgehend von den Normalbasiswerten nimmt der ^3H -Index wie die gesamte Zellschichtung im gleichen Maße zu! Als langsam ausdifferenzierendes Epithel (unter Vaselinebehandlung: Str. granulosum 9. bis 10. Tag, oberster Rand des Str. granulosum 13. bis 15. Tag) zeigen die Indexwerte ebenfalls erst innerhalb dieses Zeitraumes einen erneuten Anstieg.

Bei der vergleichenden Betrachtung der Kurven (s. Kurve III und IV) wird jedoch klar, daß ein unmittelbarer Zusammenhang zwischen der am 8. Tag und 10. Tag stark zunehmenden Epidermisverdickung und dem Verhalten der ^3H -Indices (s. Kurve IIIa und IVa) zu diesem Zeitpunkt nicht besteht. Es ist uns zur Zeit nicht möglich, dieses Phänomen näher zu erklären.

Es fiel auf, daß die gegenüberliegenden Epithelseiten immer mitmarkiert waren, unabhängig davon, ob die Injektionsquaddel rein subepithelial oder mehr intracutan gesetzt wurde. Vorläufige Auszählungen der Unterseite ergaben bei den Kontrollpräparaten keine Abweichungen der an den oberen Epithelseiten ermittelten DNS-Syntheserate. Aus diesen Werten geht nicht

hervor, inwieweit es sich hierbei um DNS-Synthese fördernde oder hemmende Stoffe handelt.

Der manchmal über dem der behandelten Seite liegende ^3H -Index der Unterseite läßt eher an die Möglichkeit einer artifiziellen Reizung denken (gegenseitiges Scheuern und Reiben).

Teil III :

DNS-Phasenbestimmung

Zur Erläuterung seien die von BOWARD und PELG 1953 (1b) eingeführten Abkürzungen kurz dargestellt:

G_1 = postmitotische e-praesynthetische Ruhepause

S = DNS-Verdoppelungsdauer = Synthesezeit

G_2 = (min.) = Zeitdauer bis zum Auftreten der ersten markierten Mitosen

M = Mitosezeit

Markierte Mitosen finden sich nach einer Stunde = ($G_{\text{min.}}$), eine maximale Markierung nach 4 bis 5

Stunden = $(G_{2\max} + 1/2 M)$. Das ergibt bei einer Mitosedauer von annähernd 1 Stunde eine mittlere G_2 -Phase von 2 bis 3 Stunden. Bei G_2 mittel + $1/2 M$ sollten 50% der Mitosen markiert sein, was nach Kurve V auch in etwa der Fall ist.

Die eigentliche Untersuchung galt der S-Phasenbestimmung, dessen Dauer zwischen den 50% Werten der auf- und absteigenden Kurvenschenkel festgelegt werden kann. Hierbei zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen behandelter und unbehandelter Rückenhaut.

An steady state-Gewebe lässt sich mit Hilfe der ermittelten S-Phase nach SHERMAN, QUASTLER und WIMBER (30) folgende Methode zur Bestimmung der Generationszeit in der Basalzellschicht anwenden. Danach gilt für Zellpopulationen im steady state :

$$G = \frac{S}{3_H}$$

G = Generationszeit (durchschnittliche Verweildauer im Str. basale)

S = Dauer der S-Phase

$3_H = 3_H\text{-Index}$

Bei einem 3_H -Index von 15/100 Basalzellen und einer S-Phasendauer von 10,5 Stunden findet sich

für die Kontrollseite Rücken eine Verweildauer von 70 Stunden; d.h. die Zellen bleiben durchschnittlich 70 Stunden im Str. basale liegen, ehe sie mit der Wanderung durch das Rete Malpighi beginnen. Für das Ohr errechnet sich bei einem ^3H -Index von 19/100 Basalzellen eine Verweildauer von 55 Stunden. WEGENER, HOLLWEG und MAURER (1964 (34)) fanden bei fast allen fetalen Zellarten der Ratte S-Phasen gleicher Länge (5 bis 6 Stunden). Es scheint daher gerechtfertigt, die am Rücken gefundenen Werte von 9 bis 11 Stunden auf die Ohrepidermis zu übertragen.

Aus dem gemessenen Prozentanteil von 3,5 bis 4,4 markierten Zellen pro 100 Epidermiszellen errechnet sich für die Kontrollseiten des Ohres (= gesamtes Rete Malpighi) eine Generationszeit von 250 bis 300 Stunden oder von 10 bis 12 Tagen. Diese Zeitspanne von durchschnittlich 11 Tagen deckt sich ziemlich genau mit der anhand von Turnoverwerten ermittelten Dauer der Wanderungsperiode zwischen Str. basale und Str. granulosum. Am Rücken finden wir bei 8,5 bis 10 markierten Zellen pro 100 Epidermiszellen eine Generationszeit von 100 bis 130 Stunden, gleich 4,5 bis 5,5 Tage, dessen Mittelwert von 5 Tagen ebenfalls mit den Turnoverwerten übereinstimmt.

Aufgrund dieser Ergebnisse läßt sich für die unbehandelten Hautareale des Ohres eine Gesamt-

generationszeit von 19 bis 20 Tagen annehmen (Verweildauer im Str. basale 2,5 Tage, Rete Malpighi 17 bis 18 Tage), für den Rücken (Verweildauer 3 Tage, Rete Malpighi 9 bis 10 Tage) eine Zeit von 12 bis 13 Tagen. Die unter Akanthose bei beiden Epithelien um 4,5 Tage beschleunigte Zellwanderung würde für den Rücken eine Generationszeit des Rete Malpighi von 7 bis 8 Tagen, für das Ohr von 14 bis 15 Tagen ergeben, wie die Turnoverwerte aus Tab. IV bestätigen.

Zur Pathogenese der Akanthose :

Das schon von BERRES (2,3) nach Vaselineapplikation beobachtete intra- wie extrazelluläre Ödem findet sich auch in unseren Präparaten und ist sicherlich an der Epithelverbreiterung mitbeteiligt. Wesentlicher erscheint uns jedoch, daß die basale Zellneubildung gegenüber den unbehandelten Hautpräparaten um 70% gesteigert ist, wir es also nicht wie BERRES annahm - mit einer gleichbleibenden Zellregeneration bei vermindertem Zellabbau zu tun haben, sondern im Gegenteil eine verstärkte Zellneubildung bei einem nahezu gleichbleibenden, bzw. nur geringfügig beschleunigten Abbau vorfinden.

Inwieweit humorale Stoffe, die sich möglicherweise unter dem Vaselinefilm in der Epidermis anreichern, stimulierend auf die teilungsfähigen Basalzellager einwirken, läßt sich ohne biochemische Untersuchungen nicht klären.

Auch die Frage der entzündungsbedingten Pathogenese der Akanthose (HEITE (11), SCHAAF und GROSS (29), VONKENNEL (39)) kann in dieser Arbeit nicht beantwortet werden. Selbst bei sehr lang durchgeführter Vaselineapplikation fanden sich keine nennenswerten Hinweise dafür, daß sich entzündliche Geschehen abspielen. Epidermis wie Cutis waren stets frei von entzündlichen Zellen, für eine entzündliche Genese der Akanthose ergibt sich hier somit kein Anhalt.

Zusammengefaßt läßt sich die mit weißer Vaseline erzeugte Akanthose mit Hilfe folgender Faktoren erklären:

Gesteigerte Zellproliferation in der Basalzellschicht, Verdickung der Epidermis durch die anwachsende Zellpopulation bei einer um $1/6$ (Ohr) bis um die Hälfte (Rücken) beschleunigten Zellmauserung. Obwohl dazu erhöhte Zelleistungen erforderlich sind, erscheint das histologische Bild nur wenig verändert, insbesondere sind an der Hornschicht keine morphologischen Veränderungen erkennbar.

Z u s a m m e n f a s s u n g
=====

Teil I :

1. An der Rückenhaut des Meerschweinchens wurde durch tägliche Applikation von gelber und weißer Vaseline eine Epithelverdickung erzeugt.
2. Bei täglich einmal erfolgreicher Applikation von weißer Vaseline betrug nach 18 Tagen die Epidermisverbreiterung am Rücken das 3,85 fache, am Ohr nur das 2,2 fache.
3. Weiße Vaseline bewirkte eine im Mittel um 13% stärkere Verbreiterung als gelbe Vaseline.
4. Nach Absetzen der Vaselinebehandlung bilden sich die akanthotischen Veränderungen zurück und erreichen nach 10 bis 12 Tagen ihren Ausgangswert.
5. Mechanische Bearbeitung der Haut (Reiben) ohne Vaselineapplikation führte zu keiner meßbaren Verdickung der Epidermis.

Teil II :

A.

1. Der ^3H -Thymidin-Index der Basalzellschicht beträgt in den Kontrollpräparaten des Rückens 14%, des Ohres 19%.
2. Nach Vaselineapplikation kommt es an beiden Epithelien zu einer ^3H -Indexsteigerung um 70%.
3. Diese Steigerung bleibt für die Dauer der Vaselineapplikation erhalten.

B.

1. Die epidermale Erneuerungszeit beträgt bei der unbehandelten Meerschweinchenepidermis am Rücken 5 Tage, am Ohr 11 Tage, gemessen vom Str. basale bis zum Str. granulosum. (Für den Großteil der Zellen verlängern sich diese Werte um durchschnittlich 3 Tage).
2. Sie verkürzt sich nach Vaselineapplikation an beiden Epithelien um 2 Tage, so daß bis zum Str. granulosum am Rücken 3 Tage benötigt werden, am Ohr 9 Tage.
3. Die Steigerung des ^3H -Index sowie die verkürzte Turnoverzeit zeigen, daß Zellreduplikation und Keratinisation beschleunigt ablaufen.

4. Die akanthogene Wirkung von Vaseline wird neben Epithelschwellung mit der starken Proliferationsstimulierung erklärt, die Zellausreifung bleibt im Vergleich dazu nur wenig beschleunigt.

Teil III :

1. Durch Auszählung markierter mitotischer Figuren in zeitlichem Abstand nach ^3H -Thymidin-Injektion wurde die Dauer der S-Phase bestimmt.
2. Dabei fand sich am Rücken eine S-Phasendauer von 9,5 Stunden. Unter den Bedingungen der Akanthose scheint sich die S-Phase auf 11,5 Stunden zu verlängern. Der Unterschied ist jedoch nicht signifikant.
3. Aus der S-Phasendauer und dem ^3H -Index ergibt sich für die Basalzellschicht des Rückens eine Generationszeit von 70 Stunden, des Ohres von 55 Stunden.
4. Für das gesamte Rete Malpighi des Rückens beträgt die Generationszeit 100 bis 130

Stunden (4,5 bis 5,5 Tage), des Ohres 250
bis 300 Stunden (10 bis 12 Tage).

5. Die Dauer der Generationszeit des unbehandel-
ten wie des akanthotischen Epithels entspricht
bei dieser Berechnung den in Teil II/B ge-
fundenen Werten.

L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s
=====

1. Berres, H.H. :

Morphologische Veränderungen der
Meerschweinchenhaut nach Salben-
einwirkung.

Arch.Derm.Syph. (Berl.) 194,
259-269 (1952)

2. Berres, H.H. :

Die Behandlung einer Bowenschen
Erkrankung mit dem Colchicin-Cyto-
staticum 12^o669 A unter histolo-
gischer Kontrolle.

Arch.Derm. 197, 479-483 (1954/55)

3. Berres, H.H. :

Morphologie und Genese der Haut-
veränderungen durch Salben.

Arch.klin.exp.Derm. 203, 541-555
und 556-569 (1956)

4. Brun, R., E. Bujard et W. Jadassohn :

Effect de divers onguents sur l'epi-
derme du cobaye.

Dermatologica (Basel) 111, 107-110
(1955)

5. Brun, R., E. Bujard et W. Jadassohn :

Effet acanthogene d'acides et alcools
aliphatiques sur le flanc de cobaye.

Dermatologica (Basel) 115, 35-39
(1957)

6. Bujard, E., R. Brun et W. Jadassohn :
Experiences sur l'acanthose chez
le cobaye.
Dermatologica (Basel) 114, 171-177
(1957)
7. Christophers, E. und E. Schaumlöffel :
Zur DNS-Synthesezeit in der mensch-
lichen Epidermis.
Arch.klin.exp.Derm. 228, 57-64 (1967)
8. Epstein, W.L. and H.I. Maibach :
Cell renewal in human epidermis.
Arch.Derm. 92, 462-468 (1965)
9. Gelfant, S. :
Patterns of epidermal cell divisions.
Exp. Cell Res. 32, 521 (1963)
10. Gaudin, P. :
Acanthose par Chrysarobine, Vaseline
et frottement.
Dermatologica (Basel) 97, 208-215 (1948)
11. Heite, H.J. und H. Hirte :
Zur tierexperimentellen Auslösung
der Akanthose durch Röntgenstrahlen.
Hautarzt 10, 72-76 (1959)
12. Heite, H.J. und H.J. Koch :
Über die experimentelle Auslösung der
Akanthose unter einer luftdicht ab-
schließenden Kapsel.
Arch.klin.exp.Derm. 212, 365-373 (1961)

13. Heite, H.J. und H. Pickerodt :
Vergleichende Messungen am Deck- und
Follikel-epithel bei der experimentellen
Akanthose der Meerschweinchenflanke.
Arch.klin.exp.Derm. 214, 240-249 (1961)
14. Heite, H.J., M. Ludwig und R. Plat :
Zur Kritik des Begriffes 'Akanthose-
faktor'.
Dermatologica (Basel) 118, 27-43 (1959)
15. Heite, H.J. und J.W. Schumann :
Untersuchungen am Akanthosetest über
die Wirksamkeit kochsalzhaltiger Salben.
Arch.klin.exp.Derm. 228, 266-275 (1967)
16. Heite, H.J. und Chr. Ulrich :
Epidermisdicke, Zellzahl und Mitose-
rate in der Meerschweinchenhaut unter
dem Einfluß verschiedener Röntgenbe-
strahlungsbedingungen.
Arch.klin.exp.Derm. 210, 625-640 (1960)
17. Hodara, M. :
Histologische Untersuchung über die
Wirkung des Chrysarobins.
prakt.Derm. 30, 53-69 (1900) und
31, 261-268 (1900)
18. Howard, A. und S.R. Pelg :
Synthesis of desoxyribonucleic acid in
normal and irradiated cells and its
relation to chromosome breakage.
Heredity (Suppl.) 6, 261 (1953)

19. Höfs, W. und W. Tunger :

Akanthose und Keratosetest als Prüfungsmethoden für Salbengrundlagen.
Derm.Wschr. 139, 97-115 (1959)

20. Jadassohn, W. :

Zur Wirkung von Chrysarobin auf die Haut.
Schweiz.med.Wschr. 74, 1143-1149 (1944)

21. Jadassohn, W., R. Brun und E. Bujard :

Die Meerschweinchenhaut als dermatologisches Testobjekt.
Dermatologica (Basel) 210, 322-326
(1960)

22. Lipkin, M. :

Cell replication in the gastrointestinal of man.
Progr.Gastroentero. 48, 616-623 (1965)

23. Messier, B. and C.P. LeBlond :

Cell proliferation and migration as revealed by radioautography after injection of thymidine- H^3 into male rats and mice.
Amer.J.Anat. 106, 247 (1960)

24. Oberste-Lehn, H. und F.W. Wiemann :

Die Meerschweinchen als dermatologisches Testobjekt.
Arch.klin.exp.Derm. 209, 539-550 (1959)

25. Pilgrim, Ch. und W. Maurer :

Autoradiographische Untersuchung über
die Konstanz der DNS-Verdopplungsdauer
bei Zellarten von Maus und Ratte durch
Doppelmarkierung mit ^3H - und ^{14}C -
Thymidin.

Exp. Cell Res. 37, 183-199 (1965)

26. Pinkus, H. :

Examination of the epidermis by the
strip method.

J.invest.Derm. 19, 431-444 (1952)

27. Schaaf, F. :

Akanthosetest mit Teer- und Teerkohlen-
wasserstoffen.

Dermatologica (Basel) 115, 347-381
(1957)

28. Schaaf, F. und F. Groß :

Tierexperimentelle Untersuchungen mit
Salben und Salbengrundlagen.

Dermatologica (Basel) 106, 357-378
(1953)

29. Schaaf, F. und F. Groß :

Die Reaktion der Haut gegenüber äußer-
lich applizierten Stoffen.

Dermatologica (Basel) 106, 170-175
(1953)

30. Sherman, F.G., H. Quastler and D.R. Wimber :
Cell population kinetics in the ear
epidermis of mice.
Exp. Cell Res. 25, 114-119 (1961)
31. Steigleder, G.K. :
Beitrag zur Funktion der Akanthose.
Arch.klin.exp.Derm. 200, 377 (1955)
32. Unna, P.G. :
Die Histopathologie der Hautkrank-
heiten.
Berlin 1894
33. Vonkennel, J. :
Parfümerie und Kosmetik 36 B, 33-249
(1956)
Zit. nach Höfs, W. und W. Tunger (19)
34. Wegener, K., S. Hollweg und W. Maurer :
Autoradiographische Bestimmung der
DNS-Verdopplungszeit und anderer Teil-
phasen des Zellzyklus bei fetalen
Zellarten der Ratte.
Zellforsch. 63, 309-326 (1964)

L e b e n s l a u f

Geboren wurde ich in Graz/Österreich am Silvestermorgen des Jahres 1940 als erster Sohn des damaligen Assistenzarztes Dr. med. E. Petzold und seiner Frau Annemarie, geb. Lange. Die Kriegszeiten brachten Evakuierungen in die Steiermark mit sich, 1944 eine Übersiedlung nach Neumark in Sachsen und eine abermalige Flucht nach Westdeutschland, nach Marl in Westfalen, im Jahre 1945. Da selbst wurde nach der Volksschulzeit das Neusprachliche-Albert-Schweitzer-Gymnasium besucht, das Abitur verspätet absolviert, da ein überaus beschleunigtes Längenwachstum eine Pause von einem Jahr erforderte.

Danach ordnungsgemäßer Studienbeginn an der Johannes-Gutenberg-Universität in Mainz. Das Physikum nach dem 5. Semester gestattete einen Ortswechsel. In Graz studierte ich ein Jahr lang Land und Leute. Für die restlichen Semester wurde eine kleinere, traditionsreiche Universitätsstadt gesucht und in Marburg gefunden. Erst hier begann das eigentliche klinische Studium, das 1968 abgeschlossen werden soll.

Angeregt durch die vorliegende Arbeit werde ich mich später der Dermatologie widmen.

Ich bedanke mich bei Herrn Professor Dr. med.
O. Braun-Falco für das Thema und die vorzüg-
lichen Arbeitsmöglichkeiten.

Meinen herzlichsten Dank vor allem Herrn Dr. med.
E. Christophers, wie auch Herrn Preis, Frau Bollmann,
Frau Menze, Frau Schneider, Frau Böhle, Fräulein
Langanki und Frau Reiter.

Unter Herrn Professor Dr. med. H. C. Friederich
konnte die Arbeit abgeschlossen werden, dafür
bedanke ich mich ebenfalls.

Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren und Dozenten:

In Mainz:

Berthold, Dabelow, Görres, Klages, Lang, Laven, Mislin, Schriever, Straßmann, Thews, Watzka.

In Graz:

Brücke, Getsch, Greif, Kreiner, Lorenz, Messerklinger, Möse, Münger, Navratil, Pakesch, Ratzenhofer, Reifensstuhl, Spaht, Trauner.

In Marburg:

Beckmann, Berendes, Braun-Falco, Buchholz, Dittrich, Dölle, Exner, Gedigk, Knauf, Linneweh, Löhr, Lübbers, Martini, Marx, Neubauer, Rochement, Rohen, Schleyer, Schmid, Schwaiger, Siegert, Siess, Straub, Streicher, Würtele.

